

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number: 10-282426 (43)Date of publication of application: 23.10.1998

(51)Int.Cl. G02B 21/00

G01N 21/27

.....

.....

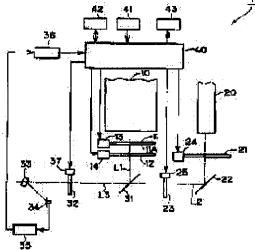
(21)Application number : 09-098181 (71)Applicant : NIKON CORP (22)Date of filing : 01.04.1997 (72)Inventor : ADACHI AKIRA

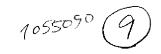
## (54) LASER MICROSCOPE

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To optimize the respective light quantities of plural laser beams without requiring complex operation, and to optimize the output balance of the plural laser beams, and also to provide an inexpensive laser microscope.

SOLUTION: As to this laser microscope provided with at least one light source 10 emitting the plural laser beams having mutually different wavelength, a ROM 41 storing data related to the optimum light quantities of the laser beams, ND filters 12 and 21 capable of individually adjusting the respective light quantities of the plural laser beams, shutters 23 and 32 detecting the light quantity of at least one laser beam among the plural laser beams, a dichroic mirror 31, a plane parallel glass 33, and an SPD 34; the CPU 40 controls the filters 12 and 21 so that the respective light quantities of the plural laser beams become the optimized light quantities stored in the ROM 41 based on a detection signal obtained from the SPD 34.





(19)日本国特許庁(JP)

# (12) 公開特許公報(A)

(11)特許出籍公院番号

# 特開平10-282426

(43)公開日 平成10年(1998)10月23日

(51) Int.CL.4

識別配号

 $\mathbf{F}\cdot\mathbf{I}$ 

G 0 2 B 21/00

G01N 21/27

G02B 21/00 G01N 21/27

E

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全 6 頁)

(21)出願番号

(22)出廣日

特面平9-98181

平成9年(1997)4月1日

(71)出職人 000004112

株式会社ニコン

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号

(72)発明者 安達 晃

東京都千代田区丸の内3丁目2番3号 株

式会社ニコン内

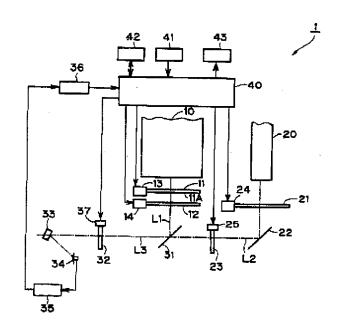
(74)代理人 护理士 木内 修

## (54) 【発明の名称】 レーザ顕微鏡

## (57) 【要約】

【課題】 煩雑な操作を必要とせずに複数のレーザ光の それぞれを適正光量にすることができるとともに、複数 のレーザ光の出力バランスを適正にすることができ、し かも安価なレーザ顕微鏡を提供する。

【解決手段】 互いに波長が異なる複数のレーザ光を出射する少なくとも1つの光源10と、レーザ光の適正光量に関するデータを記憶するROM41と、複数のレーザ光の各々の光量を個別に調整可能なNDフィルタ12,21と、複数のレーザ光のうちの少なくとも1つのレーザ光の光量を検出するためのシャッタ23,32、ダイクロイックミラー31、平行平面ガラス33及びSPD34とを備えたレーザ顕微鏡において、CPU40がSPD34から得られる検出信号に基づいて、複数のレーザ光の各々の光量がROM41に記憶された適正光量となるように、NDフィルタ12,21を制御する。



I

#### 【特許請求の範囲】

【請求項1】 互いに波長が異なる複数のレーザ光を出 射する少なくとも1つの光源と、

前記レーザ光の適正光量に関するデータを記憶する記憶 手段と

前記複数のレーザ光の各々の光量を個別に調整可能な調 整手段と、

前記複数のレーザ光のうちの少なくとも1つのレーザ光 の光量を検出するための検出手段と、

前記検出手段から得られる検出信号に基づいて、前記複 10 数のレーザ光の各々の光量が前記記憶手段に記憶された 前記適正光量となるように、前記調整手段を制御する制 御手段と、を備えることを特徴とするレーザ顕微鏡。

【請求項2】 前記複数のレーザ光がそれぞれ単独で通 過する複数の分割光路と、前記複数の分割光路のレーザ 光の全てが合成されて通過する主光路とを備え.

前記複数の分割光路の全て又は1つを除いた光路には遮 光手段が配置され、前記主光路には前記主光路を通過す るレーザ光の光量を検出する1つの検出器が配置されて いることを特徴とする請求項1記載のレーザ顕微鏡。

#### 【発明の詳細な説明】

[0001]

【発明の属する技術分野】本発明はレーザ顕微鏡に関 し、特に常に適正な光量で観察を行うことができるレー ザ顕微鏡に関する。

### [0002]

【従来の技術】図3は従来のレーザ顕微鏡のレーザ光の 躢光方法を説明するブロック構成図である。

【0003】このレーザ顕微鏡は、互いに波長が異なる 複数のレーザ光を射出するレーザ光源110と、このレ ーザ光源110の前側に配置された励起フィルタ111 と、レーザ光源110から射出されたレーザ光を反射す る全反射ミラー112と、レーザ光の光量を検出するシ リコン・フォト・ダイオード(以下SPDと称する) 1 13と、このSPD113ヘレーザ光を導く平行平面ガ ラス114と、この平行平面ガラス114と全反射ミラ ー112との間の光路し上に配置されたNDフィルタ1 15と、このNDフィルタ115と平行平面ガラス11 4との光路し上に開閉可能に配置されたシャッタ116 と、SPD113の受光出力を増幅するアンプ117 と、その出力をA/D変換によってデジタル化するA/ D変換器118と、演算等の処理を行うCPU140 と、CPU140で処理された結果等を表示する光量モ ニタ143とを備える。

【0004】図4は従来の他のレーザ顕微鏡のレーザ光 の調光方法を説明するブロック構成図であり、図3のレ ーザ顕微鏡と同一部分には同一符号を付す。

【0005】このレーザ顕微鏡は、互いに波長が異なる 複数のレーザ光を射出するレーザ光源110と、このレ

と、レーザ光源110とは異なる波長のレーザ光を出射 するレーザ光源120と、レーザ光源120から射出さ れたレーザ光を反射する全反射ミラー121と、レーザ \* 光源110から出射されたレーザ光を反射し、レーザ光 源120から出射されたレーザ光を透過するダイクロイ ックミラー122と、励起フィルタ111とダイクロイ ックミラー122との間の光路上に矢印 a で示すように 挿入可能に配置されたNDフィルタ123と、レーザ光 の光量を検出するSPD113と、このSPD113へ レーザ光を導く平行平面ガラス114と、この平行平面 ガラス114とダイクロイックミラー122との間の光 路上に配置されたNDフィルタ115と、このNDフィ ルタ115と平行平面ガラス114との光路上に開閉可 能に配置されたシャッタ116と、SPD113の受光 出力を増幅するアンプ117と、その出力をA/D変換 によってデジタル化するA/D変換器118と、演算等 の処理を行うCPU140と、CPU140で処理され

【0006】上記いずれのレーザ顕微鏡においても、S 20 PD113で検出された光量をモニタ143に表示し、 この光量に基づいて光路内に配置された透過率固定又は 連続可変のNDフィルタ115で光量を調整することで 調光が行われる。

た結果を表示する光量モニタ143とを備える。

[0007]

【発明が解決しようとする課題】しかし、図3のレーザ 顕微鏡の場合、光量モニタ143に表示された値を基に レーザ光を変える度にNDフィルタ115を操作しなけ ればならず、レーザ光の調光は手間のかかる煩わしいも のであった。

30 【0008】また、図3のレーザ顕微鏡のように複数の 光源を用いて多重励起を行う場合、1つのNDフィルタ 115及び1つの光量モニタ143を用いて調光を行っ ているので、各レーザ光源110,120から出射され た波長の異なる励起光が同じNDフィルタ115で調光 されることになる。

【0009】したがって、レーザ光の出射出力がかなり 異なるレーザ光の組合せの場合には、各レーザ光の出射 出力の差に応じて、例えばディスクリートNDフィルタ 123を出射出力の大きなレーザ光源の光路上に挿入し 40 て各レーザ光の出力バランスをとる必要がある。

【0010】また、長期間の使用によってレーザ光源1 10, 120の出力が落ちてきた場合には、光の透過強 度の異なる別のNDフィルタ123を用い、適正光量が 得られるようにする。

【0011】そのため、複数のレーザ光源を用いて多重 励起を行う場合、レーザ光の調光はやはり手間のかかる 煩わしいものであった。

【0012】これに対し、レーザ光源毎にSPD113 や光量モニタ143を設けて対処することもできるが、 ーザ光源110の前側に配置された励起フィルタ111 50 光路が複雑化するととともに、顕微鏡が大型化し高価に 3

なってしまう。

【0013】この発明はこのような事情に鑑みてなされたもので、その課題は煩雑な操作を必要とせずに複数のレーザ光のそれぞれを適正光量にすることができるとともに、複数のレーザ光の出力バランスを適正にすることができ、しかも安価なレーザ顕微鏡を提供することである。

#### [0014]

【課題を解決するための手段】前述の課題を解決するため請求項1記載の発明のレーザ顕微鏡は、互いに波長が 10 異なる複数のレーザ光を出射する少なくとも1つの光源と、レーザ光の適正光量に関するデータを記憶する記憶手段と、複数のレーザ光の各々の光量を個別に調整可能な調整手段と、複数のレーザ光のうちの少なくとも1つのレーザ光の光量を検出するための検出手段と、検出手段から得られる検出信号に基づいて、複数のレーザ光の各々の光量が記憶手段に記憶された適正光量となるように、調整手段を制御する制御手段とを備えることを特徴とする。

【0015】検出手段から得られる検出信号に基づいて、複数のレーザ光の各々の光量が記憶手段に記憶された適正光量となるように、調整手段が制御されるので、複数のレーザ光の多重励起を行う場合、煩雑な操作を必要とせずに各レーザ光を適正光量にすることができるとともに、複数のレーザ光の出力バランスを適正にすることができる。

【0016】請求項2記載の発明のレーザ顕微鏡は、請求項1記載のレーザ顕微鏡において、複数のレーザ光がそれぞれ単独で通過する複数の分割光路と、複数の分割光路のレーザ光の全てが合成されて通過する主光路とを 30 備え、複数の分割光路の全て又は1つを除いた光路には遮光手段が配置され、主光路には主光路を通過するレーザ光の光量を検出する1つの検出器が配置されていることを特徴とする。

【0017】1つの検出器によって主光路を通過するレーザ光の光量を検出するので、光路の簡略化を図ることができる。したがって、顕微鏡の小型化やコストダウンを図ることができる。

#### [0018]

【発明の実施の形態】以下、この発明の実施の形態を図 40 れの駆動はCPU40からの指令によって制御される。 面に基づいて説明する。 【0031】全反射ミラー22はレーザ光源20からB

【0019】図1はこの発明の第1実施形態に係るレーザ顕微鏡のレーザ光の調光方法を説明するブロック構成図である。

【0020】このレーザ顕微鏡1は、レーザ光源10と、励起フィルタ11と、NDフィルタ(調整手段)12と、レーザ光源20と、NDフィルタ(調整手段)21と、全反射ミラー22と、シャッタ23と、ダイクロイックミラー31と、シャッタ32と、平行平面ガラス33と、シリコンフォトダイオード(受光手段)34

(以下「SPD」と記す)と、アンプ35と、A/D変換器36と、CPU(制御手段)40と、ROM(記憶手段)41と、RAM42と、光量モニタ43とを備える。シャッタ23と、ダイクロイックミラー31と、シャッタ32と、平行平面ガラス33と、SPD34とで検出手段が構成される。

【0021】レーザ光源10として、可視光レーザの中で最も出力が大きく、青色、緑色を中心とした複数の波長のレーザ光を発振できるArレーザを用いる。ここでは、波長  $\lambda$  が 488 nm  $\lambda$  び 514 nm の 2 つの波長のレーザ光を出射する空冷 Arレーザを用いる。

【0022】励起フィルタ11は円盤状の励起フィルタホイール11Aに配置され、この励起フィルタホイール 11Aをモータ13によって回転させることで、分割光路L1上に励起フィルタ11を位置させることができる。

【0023】励起フィルタホイール11Aは遮光材でできており、励起フィルタ11を通る光だけを透過させる。モータ13の駆動はCPU40によって制御される。励起フィルタ11は、例えば波長えが488nm及び514nmの光だけを透過させる特性を有する。

【0024】NDフィルタ12は透過する光の減衰を目的とするものである。このNDフィルタ12として、モータ14を用いて光の透過位置を変化させることによって透過率を変えることができる、透過率可変のものを用いる。

【0025】レーザ光源20にHe-Neレーザを用い、波長2が543.5nmの光を出射する。

【0026】NDフィルタ21はNDフィルタ12と同 の じ構成とし、このNDフィルタ21の光の透過位置をモ ータ24を用いて可変とする。

【0027】なお、モータ14,24の駆動はCPU4 0からの指令によって制御される。

【0028】シャッタ23はHe-Neレーザの分割光路L2中に配置され、モータ25によって開閉される。

【0029】また、シャッタ32はArレーザ及びHeーNeレーザの主光路L3中に配置され、モータ37によって開閉される。

【0030】なお、モータ25及びモータ37のそれぞれの駆動はCPU40からの指令によって制御される。

【0031】全反射ミラー22はレーザ光源20から出射されたHe-Neレーザを反射させ、ダイクロイックミラー31はレーザ光源20から出射されたHe-Neレーザを透過し、レーザ光源10から出射されたArレーザを反射させる。

【0032】平行平面ガラス33は主光路し3中に配置され、レーザ光を反射する。

【0033】SPD34は平行平面ガラス33で反射されたレーザ光を受光し、受光量に相当する電気信号に変 50 換し出力する。 .5

【0034】アンプ35はこの電気信号を増幅し、A/D変換器36はアンプ35の出力信号をデジタル信号に変換する。

【0035】ROM41には複数のレーザ光の光量バランスや試料に対する個々のレーザ光の適正光量a、bに関するデータ等が記憶されている。

【0036】CPU40はA/D変換器36、ROM4 1及びRAM42に基づいて後述する演算処理等を行 う

【0037】次に上記レーザ顕微鏡の光量調整時の動作 を説明する。

【0038】まず、画像を取得する前に、シャッタ32を閉じて主光路L3を遮断し、SPD34の零点調整を行う。

【0039】次に、例えば励起フィルタホイール11Aを回転させて励起フィルタ11を閉じるとともに、シャッタ23及びシャッタ32をそれぞれ開き、レーザ光源20から出射され、分割光路L2及び主光路L3を通るHe-Neレーザ光だけをSPD34で受光する。

【0040】このとき、光量が適正光量 a となるように モータ24を駆動してNDフィルタ21を動かし、レー ザ光源20の調光を行なう。適正光量 a はオペレータが 図示しない入力装置から入力しておいてもよいし、RO M41やデータベース(図示せず)に登録してある過去 の実験データから呼出してもよい。

【0041】調光後の光量aをHe-Neレーザ光の出力としてRAM42に記憶する。

【0042】次に、励起フィルタホイール11Aを回転させて励起フィルタ11を光路上に挿入し、光源10から出射されたArレーザ光も分割光路し1及び主光路し3を通りSPD34で受光できるようにする。

【0043】そのため、SPD34ではHe-Neレーザ光とArレーザ光とを合成した光量cが検出される。

【0044】CPU40では、SPD34で受光した光量でからHe-Neレーザの光量aを減算してArレーザの光量を求め、適正光量bとなるようにモータ14を駆動してNDフィルタ12を動かし、適正光量bをRAM42に記憶させるとともに、光量モニタ43に表示させる。

【0045】その後、光量を変えたい場合には、NDフィルタを片方ずつ駆動し、その都度光量。の増減から駆動させたNDフィルタに対応する光量を演算し、演算結果をRAM42に記憶させるとともに、光量モニタ43に表示する。

【0046】この実施形態によれば、1つのSPD34と1つの光量モニタ43で複数のレーザ光の調光を自動的に行うことができるので、レーザ出力が大きく異なるときでもNDフィルタの交換等の煩雑な操作を必要とせずにレーザ光を適正光量とすることができるとともに、レーザ光の出力パランスを適正にすることができ、間時

に光路を簡素化でき、顕微鏡を小型化して安価とすることができる。

【0047】なお、調光は上記方法に限定されるものではなく、まずシャッタ23を閉じてレーザ光源10の調光を行い、次に励起フィルタ11を閉じるとともに、シャッタ23を開けてレーザ光源20の調光を行うようにしてもよい。

【0048】上記第1実施形態ではレーザ光源が2つの場合で説明したが、3つ以上の光源の場合においても適用できる。また、制御手段としてはCPU40でなく、ROM41やRAM42を含むマイコンであってもよい

【0049】図2はこの発明の第2実施形態に係るレーザ顕微鏡のレーザ光の調光方法を説明するブロック構成図であり、図1のレーザ顕微鏡と同一部分については同一符号を付しその説明を省略する。

【0050】このレーザ顕微鏡50は、レーザ光源60と、励起フィルタ61と、ダイクロイックミラー62,63と、NDフィルタ(調整手段)64,65と、シャッタ66,67と、全反射ミラー68,69と、シャッタ32と、平行平面ガラス33と、SPD(受光手段)34と、アンプ35と、A/D変換器36と、CPU(制御手段)40と、ROM(記憶手段)41と、RAM42と、光量モニタ43とを備える。シャッタ66,67と、ダイクロイックミラー62,63と、シャッタ32と、平行平面ガラス33と、SPD34とで検出手段が構成される。

【0051】レーザ光源60は、複数の波長のレーザ光を出射できる。このレーザ光源60としては、例えば波30 長 1 が 488 nm, 568 nm及び647 nmで光量のピークを有するレーザ光を出射するクリプトン・アルゴンイオンレーザが用いられる。

【0052】励起フィルタ61はCPU40によって制御され、例えば波長1が488nm及び568nmの光だけを透過させる特性を有する。

【0053】ダイクロイックミラー62,63は波長  $\lambda$  = 488 n m のレーザ光を反射し、波長  $\lambda$  = 568 n m のレーザ光を透過させる。

【0054】NDフィルタ64,65は透過する光の減40 衰を目的とするものである。このNDフィルタ64、65として、モータ64A,65Aを用いて光の透過位置を変化させることによって透過率を変えることができる、透過率可変のものを用いる。

【0055】なお、モータ64A,65Aの駆動はCP U40からの指令によって制御される。

【0056】シャッタ66はNDフィルタ64とともに 波長え=568nmのレーザ光が通る分割光路L5中に 配置され、モータ66Aによって開閉される。

ずにレーザ光を適正光量とすることができるとともに、 【0057】また、シャッタ67はNDフィルタ65と レーザ光の出力パランスを適正にすることができ、問時 50 ともに波長λ=488nmのレーザ光が通る分割光路L

4中に配置され、モータ67Aによって開閉される。

【0058】なお、モータ66A, 67Aの駆動はCP U40からの指令によって制御される。

【0059】全反射ミラー68,69は分割光路し4中 に配置され、ダイクロイックミラー62で反射された波 長え=488nmのレーザ光をNDフィルタ65及びシ ャッタ67を介してダイクロイックミラー63へ導く。

【0060】次に上記レーザ顕微鏡の光量調整時の動作 を説明する。

【0061】まず、画像を取得する前に、シャッタ32 を閉じて主光路し6を遮断し、SPD(受光手段)34 の零点調整を行う。

【0062】次に、例えばシャッタ66を閉じるととも に、シャッタ67及びシャッタ32をそれぞれ開き、分 割光路L4及び主光路L6を通る波長え=488nmの レーザ光だけをSPD34で受光する。

【0063】このとき、光量が適正光量aとなるように モータ65Aを駆動してNDフィルタ65を動かし、調 光を行なう。適正光量aはオペレータが図示しない入力 装置から入力しておいてもよいし、ROM41やデータ 20 ベース(図示せず)に登録してある過去の実験データか ら呼出してもよい。

【0064】調光後の光量aを波長λ=488nmのレ ーザ光の光量としてRAM42に記憶させる。

【0065】次に、シャッタ66を開き、波長1~56 8mmのレーザ光もSPD34で受光できるようにす

【0066】そのため、SPD34ではNDフィルタ6 5で調光された波長λ=488nmのレーザ光とNDフ とを合成した光量cが検出される。

【0067】CPU40では、SPD34で受光した光 量cから波長λ=488nmのレーザ光の光量aを減算 して波長え=568nmのレーザ光の光量を求め、適正 光量となるようにモータ64Aを駆動してNDフィル タ64を動かし、適正光量bをRAM42に記憶すると ともに、光量モニタ43に表示する。

【0068】その後、光量を変えたい場合には、NDフ ィルタを片方づつ駆動し、その都度光量cの増減から駆 動させたNDフィルタに対応する光量を演算し、演算結 40 34 SPD(受光手段) 果をRAM42に記憶させるとともに、光量モニタ43 に表示する。

【0069】この第2実施形態によれば、第1実施形態

と同様の効果を発揮できる。

【0070】なお、この第2実施形態においても調光方 法は上記方法に限定されるものではなく、先ずシャッタ 67を閉じるとともに、シャッタ66を開けてて波長え ≃568nmのレーザ光の調光を行い、次にシャッタ6 6を閉じるとともに、シャッタ67を開けて波長1=4 88ヵmのレーザ光の調光を行うようにしてもよい。

【0071】上記第2実施形態では2つの波長のレーザ 光の場合で説明したが、3つ以上の波長の場合において 10 も同様に適用できる。また、制御手段としてはCPU4 0でなく、ROM41やRAM42を含むマイコンであ ってもよいことは第1実施形態と同様である。

#### [0072]

【発明の効果】以上に説明したように請求項1記載の発 明のレーザ顕微鏡によれば、複数のレーザ光の多重励起 を行う場合、煩雑な操作を必要とせずに各レーザ光を適 正光量にすることができるとともに、複数のレーザ光の 出力バランスを適正にすることができる。そのため、常 に適正光量で観察を行うことができる。

【0073】請求項2記載の発明のレーザ顕微鏡によれ ば、1つの検出器によって主光路を通過するレーザ光の 光量を検出するので、光路の簡略化を図ることができ る。したがって、顕微鏡の小型化やコストダウンを図る ことができる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】図1はこの発明の第1実施形態に係るレーザ顕 微鏡のレーザ光の調光方法を説明するブロック構成図で

【図2】図2はこの発明の第2実施形態に係るレーザ顕 ィルタ64で調光された波長 A = 5 6 8 n mのレーザ光 30 微鏡のレーザ光の調光方法を説明するブロック構成図で ある。

> 【図3】図3は従来のレーザ顕微鏡のレーザ光の調光方 法を説明するブロック構成図である。

> 【図4】図4は従来の他のレーザ顕微鏡のレーザ光の調 光方法を説明するブロック構成図である。

#### 【符号の説明】

- 1 レーザ顕微鏡
- 10,20 レーザ光源
- 12, 21 NDフィルタ (光量調節手段)
- - 40 CPU(制御手段)
  - 41 ROM (記憶手段)
  - 43 光量モニタ (表示手段)

